

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA QUALIDADE NUTRICIONAL DE GRÃOS DE SOJA *Glycine max* (L.)

TAÍS CAROLINA FRANQUEIRA DE TOLEDO SARTORI*
SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**
MÔNICA ALESSANDRA TEIXEIRA DOS SANTOS***
VALTER ARTHUR****

O presente trabalho teve como objetivo a determinação de alterações consequentes da aplicação de raios gama (doses de 0, 2, 4 e 8 kGy) em dois diferentes cultivares de soja (BRS 213 e Embrapa 48) mediante análises químicas de perfil lipídico, isoflavonas e polifenóis totais, livres e ligados a proteínas. Os dois cultivares apresentaram perfil lipídico semelhante e a irradiação promoveu redução nas quantidades de ácidos linolênico e linoleico. Com relação às isoflavonas, o tratamento de radiação promoveu aumento na quantidade das glicosiladas com dose de 2 kGy e diminuição com doses de 4 e 8 kGy. A irradiação também foi responsável pelo aumento da capacidade antioxidante e redução da complexação entre os polifenóis e as proteínas. A partir desses resultados foi possível concluir que a radiação gama não alterou significativamente as características químicas dos cultivares de soja estudados.

PALAVRAS-CHAVE: SOJA; RADIAÇÃO GAMA; ISOFLAVONAS; PERFIL LIPÍDICO; CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.

- * Doutora em Energia Nuclear na Agricultura, Professora, Departamento de Agroindústria, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Campus Muzambinho, Muzambinho, MG (e-mail: tais.toledo@eafmuz.gov.br).
- ** Doutora em Ciência dos Alimentos, Professora Associada 2, Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP (e-mail: sgcbraza@usp.br).
- *** Doutora em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP (e-mail: monica_alessandra@yahoo.com.br).
- **** Doutor em Entomologia, Professor Associado 3, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP, Piracicaba, SP (e-mail: arthur@cena.usp.br).

1 INTRODUÇÃO

A soja, leguminosa de grande destaque na alimentação humana e animal, constitui importante fonte de proteínas de baixo custo e também de óleo, podendo ser consumida na forma de grãos ou farinha (KAUR e SINGH, 2007).

A soja representa um dos principais itens da produção agrícola brasileira. Em 2011, foram movimentados cerca de 24 bilhões de dólares apenas nas exportações de soja, farelo e óleo (ABIOVE, 2013).

O quinto levantamento de safras de soja, divulgado pela CONAB em fevereiro de 2013, aponta produção de 83.424,3 mil toneladas em 27.645,9 mil hectares de área plantada (CONAB, 2013), o que mantém o Brasil como o segundo maior produtor mundial de soja, atrás apenas dos Estados Unidos da América.

A manutenção da qualidade dos grãos de soja após a colheita depende de condições ambientais como, local, umidade, temperatura e tempo de estocagem. Muitas perdas ocorrem, principalmente, devido ao ataque de insetos e roedores que provocam alterações nas características físico-químicas do grão e por transformações estruturais de seus componentes, resultando em produto com elevada resistência à cocção e modificações nas suas propriedades organolépticas e nutricionais.

Segundo a EMBRAPA (2012), estimam-se perdas pós-colheita de mais de 10 % dos grãos, sendo a armazenagem o maior problema devido aos prejuízos decorrentes de pragas, fungos e micotoxinas. Durante a armazenagem também se observa escurecimento da superfície do grão, aumento do tempo de hidratação, redução do teor de sólidos e solubilidade proteica, decréscimo no conteúdo de fitatos, conversão estrutural das isoflavonas e oxidação de lipídios (CAI e CHANG, 1999; HOU e CHANG, 2003; 2004). Nessas condições, o grão perde qualidade e reduz seu valor nutricional, podendo causar graves efeitos sobre a saúde humana e animal quando há contaminação por micotoxinas (EMBRAPA, 2012).

A irradiação dos grãos representa alternativa atrativa e saudável na eliminação ou redução da proliferação de micro-organismos, parasitas e pragas, quando comparada aos tratamentos químicos com potencial contaminante.

A aplicação de radiação ionizante, com o propósito de preservar e desinfestar os grãos, constitui prática promissora utilizada para estender a vida útil dos produtos e diminuir as perdas durante seu armazenamento. Ainda, a irradiação reduz as perdas naturais causadas por processos fisiológicos de brotamento, maturação e senescência. O processo de irradiação acarreta alterações químicas mínimas nos alimentos, nenhuma das quais nocivas ou perigosas, motivo pelo qual a Organização Mundial de Saúde recomenda sua aplicação e uso (DIEHL, 2002; NOVELLI *et al.*, 2008).

Devido à importância da soja e com o intuito de aumentar a sua conservação no período de armazenamento, este trabalho teve por objetivo irradiar dois cultivares de grãos de soja e analisar as possíveis alterações nutricionais promovidas por diferentes doses de irradiação (2, 4 e 8 kGy).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Desenvolveu-se o experimento no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), em Piracicaba (SP), sendo os grãos irradiados no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) em São Paulo (SP).

Os cultivares utilizados no presente trabalho, BRS 213 e Embrapa 48 (ambos recomendados para o consumo humano) foram doados pela EMBRAPA Soja, Londrina (PR).

2.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

Os grãos crus foram tratados com raios gama, nas doses de 0, 2, 4 e 8 kGy, originados de irradiador de Cobalto⁶⁰ (Irradiador Comercial Multipropósito, tipo compacto, com taxa de dose de 12 kGy/hora). As doses efetivamente recebidas pelo material, medidas em dosímetro Amber Batch: P., espectrofotômetro Genesis – 20, lidas a 603 nm e temperatura de 35 °C foram de: 2,09 a 3,02 nas amostras irradiadas com 2 kGy, de 3,50 a 5,08 nas irradiadas com 4 kGy e de 7,04 a 9,12 para as irradiadas com 8 kGy.

As amostras de grãos cozidos, destinadas à realização das análises químicas, foram maceradas por 10 horas em água destilada na proporção 1:3. Desprezou-se essa água e adicionou-se água destilada na proporção 1:2. As amostras, cozidas em autoclave a 121 °C por 10 minutos, foram colocadas em bandejas de alumínio, congeladas e liofilizadas em liofilizador com capacidade de 5 kg de gelo (marca Modulyo).

2.2 MÉTODOS ANALÍTICOS

2.2.1 Perfil de ácidos graxos

Para a determinação dos diferentes ácidos graxos efetuou-se a extração dos lipídeos a frio pelo método Bligh e Dyer (1959). As amostras, inicialmente saponificadas com hidróxido de sódio e metanol 0,5 M, foram metiladas com solução de cloreto de amônia, metanol e ácido sulfúrico, segundo Hartman e Lago (1973). Após adição de 5 mL de hexano, as amostras foram submetidas à agitação por 10 segundos. Retirou-se alíquota de 3 mL do sobrenadante, que foi ressuspensa em 100 mL de hexano para injeção no cromatógrafo à gás.

As amostras foram analisadas por cromatografia à gás em cromatógrafo HP 5890 Series II, equipado com detector por ionização em chama, injetor Split e coluna capilar DB-23 de sílica fundida de 60 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno. Utilizou-se hélio como gás de arraste em fluxo de 1,5 mL/minuto. As condições cromatográficas foram: temperatura do detector de 280 °C, temperatura do injetor de 270 °C, temperatura inicial da coluna de 130 °C (durante 1 minuto), temperatura final da coluna de 230 °C (durante 3 minutos), velocidade de aquecimento 2,75 °C/min até 215 °C (permanecendo nessa temperatura por 12 minutos) e de 40 °C/min até atingir a temperatura final.

Os diferentes ácidos graxos foram identificados com base no trabalho de Ratnayake *et al.* (1990) e da utilização de padrões Sigma. Realizou-se a quantificação dos ácidos graxos por normalização, sendo as porcentagens de área transformadas em concentrações de mg 100 g⁻¹ de extrato etéreo.

2.2.2 Extração e determinação das isoflavonas

2.2.2.1 Extração das isoflavonas

Adotou-se o método descrito por Fukutake *et al.* (1996) para a extração das isoflavonas. Os grãos de soja foram triturados, peneirados e desengordurados com 50 mL de hexano por 30 minutos a 25 °C. Centrifugou-se a suspensão e secou-se o resíduo à temperatura ambiente.

As amostras de 1 g da farinha desengordurada de soja foram submetidas à extração com solução de metanol 80 % (10 mL por 2 horas a 25 °C). Em seguida, foram centrifugadas e o sobrenadante utilizado para análise de isoflavonas por cromatografia a líquido de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR).

Usaram-se padrões de isoflavonas (daidzina, daidzeína, genistina, genisteína, glicitina e

gliciteína - SIGMA) para identificação, mediante espectro de absorção e quantificação dos compostos na soja, sendo os resultados expressos em μg de isoflavona/ g^{-1} de soja.

2.2.2.2 Determinação das isoflavonas

As análises dos extratos metanólicos de soja, realizadas por CLAE-FR, seguiram o procedimento descrito por Esaki *et al.* (1999). Foram injetados 30 μL dos extratos em cromatógrafo a líquido, equipado com arranjo de fotodiodos (SPD-M10 AVP, Shimadzu CO.) e coluna C18 SHIMADZU - 5 μm , 4,6 mm.

As condições cromatográficas foram: temperatura da coluna de 30 °C e fluxo de 0,5 mL/min. Usou-se como fase móvel (solvente A) a mistura água:ácido acético (19:1) e metanol como solvente B. Iniciou-se o gradiente com 20 % do solvente B, depois 40 % em 15 min e 50 % entre 15 e 55 min, atingindo 80 % em 95 min e decrescendo para 20 % entre 95 e 105 min. Reequilibrizou-se a coluna com 20 % do solvente B por 15 min entre as corridas. As isoflavonas eluídas foram detectadas por absorbância a 254 nm.

As concentrações de daidzina, genistina, daidzeína e genisteína foram calculadas por suas curvas-padrão e glicitina e seus conjugados pela curva padrão de daidzina (BARNES, KIRK e COWARD, 1994; COWARD *et al.*, 1998).

2.2.3 Determinação da atividade antioxidante

Avaliou-se a capacidade antioxidante dos extratos de soja por meio de dois métodos espectrofotométricos diferentes: sequestro dos radicais livres do DPPH e ABTS. As metodologias para a determinação da capacidade antioxidante são numerosas e podem estar sujeitas a interferências. Assim, nenhum ensaio usado isoladamente pode refletir a capacidade antioxidante total de determinada amostra (HUANG, OU e PRIOR, 2005; PRIOR, WU e SCHAICH, 2005).

2.2.3.1 DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

Mediu-se a capacidade antioxidante dos extratos dos diferentes cultivares de soja segundo o método proposto por Brand-Williams, Cuvier e Berset (1995), utilizando 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). A atividade antioxidante foi expressa pela fórmula: % Atividade antioxidante = $(\text{Abs do controle} - \text{Abs da amostra}) \times 100 / \text{Abs do controle}$. Mediu-se a absorbância a 517 nm (SINGH, MURTH e JAYAPRAKASHA, 2002).

O método do DPPH baseia-se na reação entre o antioxidante com o reagente DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) que se converte em sua forma reduzida (1,1-difenil-2-picrilhidrazina). Nessa reação, a solução metanólica de DPPH, inicialmente de coloração violeta, torna-se amarelada e o grau de descoloração indica a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre (ABDILLE *et al.*, 2005). Ocorre a redução do radical mediante abstração do hidrogênio pelo antioxidante, ou seja, avalia-se a habilidade do antioxidante em doar hidrogênio.

Preparou-se a curva padrão com solução de Trolox em diferentes concentrações e suas respectivas porcentagens de descoloração. Os resultados foram expressos em μL de trolox g^{-1} de amostra.

2.2.3.2 ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico)

Para a avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS utilizou-se o procedimento Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), descrito por Berg *et al.* (1999) e Re *et al.* (1999), com algumas modificações. O princípio do método do ABTS consiste no monitoramento do decaimento

do radical ABTS, produzido pela reação de oxidação do 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico – ABTS), causada pela adição de amostra contendo compostos antioxidantes (CAMPOS e LISSI, 1997).

Foram preparadas soluções de Trolox (Sigma-Aldrich 238813) e dos grãos de soja com etanol. Dez microlitros de cada solução foram adicionados a 990 µL de solução de ABTS. A absorbância, medida de 1 em 1 minuto até 6 minutos, foi comparada com o branco composto por 10 µL de solvente (no caso, etanol adicionado a 990 µL de solução ABTS). Determinou-se a redução da absorbância após 5 minutos.

Calculou-se a TEAC em relação à solução de Trolox (ARTS *et al.*, 2004). A solução estoque de Trolox foi diluída em 4 pontos (2,5 µM (1:799); 5 µM (1:399); 10 µM (1:199); 15 µM (1:132)) e a curva padrão preparada.

2.2.4 Quantificação de polifenóis totais, livres e ligados a proteínas

Determinou-se o teor de polifenóis totais após extração com NaOH e centrifugação por 15 minutos, com leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 328 nm. Para determinação dos polifenóis livres realizou-se a extração e posterior mistura com solução de albumina bovina, seguida de precipitação de proteínas com 5 % de ácido tricloroacético, centrifugação e leitura. Obteve-se o polifenol ligado por diferença (CARBONARO *et al.*, 2000).

2.2.5 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados obtidos submetidos à análise de variância pelo teste F e ao teste de Tukey ($p < 0,05$) para identificar diferenças significativas entre as médias (PIMENTEL-GOMES, 1982), utilizando-se o programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1996).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

A soja contém grande quantidade de óleo rico em ácidos graxos insaturados (aproximadamente 85 % do total), apresentando alto teor de ácido linoleico (49,8-59,0 %), de 20 a 27 % de ácido oleico e, entre 5 e 11 % de ácido linolênico (BRASIL, 2006).

Teixeira *et al.* (1985), estudando a variação do perfil lipídico de algumas variedades de grãos de soja brasileiros (Santa Rosa, Paraná e Davis), encontraram valores de ácido graxo palmítico que variaram de 13,88 a 26,14 %; oleico de 13,19 a 31,78 %; esteárico de 5,03 a 9,74 %; linoleico de 28,81 a 42,30 % e de 6,35 a 20,10 % para o linolênico. A Figura 1 mostra percentual semelhante dos ácidos graxos palmítico (22,50 e 24,26 %), esteárico (5,96 e 5,24 %), oleico (16,16 e 16,11 %) e linoleico (50,29 e 49,22%) nos cultivares estudados (Embrapa 48 e BRS 213). O ácido graxo linolênico (5,07 e 5,13 %) apresentou teores similares aos encontrados por Vieira, Cabral e Paula (1999) (4,64 a 7,69 %), quando avaliaram seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. Não houve diferença entre as duas variedades analisadas quanto ao teor desses ácidos graxos (Figura 1).

Tango *et al.* (1983) verificaram que o conteúdo de óleo de diferentes cultivares de soja e a composição em ácidos graxos variam significativamente em função do cultivar e do local de plantio. Dornbos e Mullen (1992) constataram que pode ocorrer variação dessa concentração com estresse hídrico, elevando a concentração de proteína e diminuindo a de óleo com o aumento da duração do estresse. Como os dois cultivares avaliados foram obtidos em mesma condição de cultivo e plantados em mesmo local e tempo, esses fatores não influenciaram sua composição de ácidos graxos.

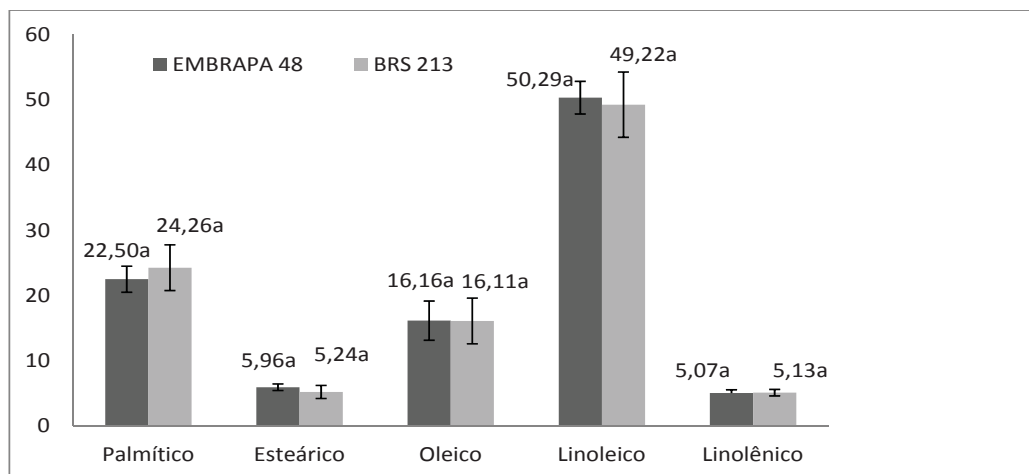


FIGURA 1 - PORCENTAGEM DE ÁCIDOS GRAXOS (PALMÍTICO, ESTEÁRICO, OLEICO, LINOLEICO E LINOLÊNICO) ENCONTRADOS NOS CULTIVARES EMBRAPA 48 E BRS 213

O processo de irradiação dos alimentos tem o propósito de estender a vida útil e reduzir perdas das safras durante o armazenamento do produto. No entanto, algumas mudanças químicas podem ser induzidas nos alimentos como resultado da utilização desse procedimento.

Após a aplicação das diferentes doses de radiação não foi possível verificar diferença significativa entre os tratamentos, embora tenha ocorrido aumento numérico na porcentagem de ácido linoleico nas doses de 4 kGy e 8 kGy (Figura 2). Ao analisar o efeito da radiação em cultivares de amendoim, Camargo *et al.* (2011) também verificaram aumento no teor de ácido linoleico, precursor de ácidos graxos de cadeia muito longa que atuam no desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina. Portanto, o processo de irradiação nas doses empregadas não alterou as porcentagens de ácidos graxos avaliados.

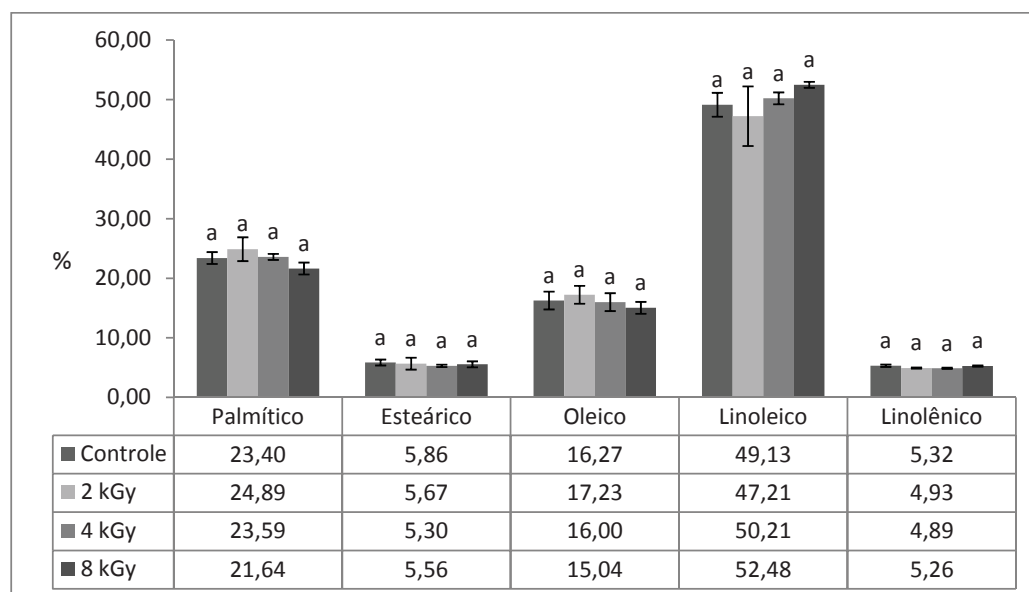


FIGURA 2 - PORCENTAGEM DE ÁCIDOS GRAXOS (PALMÍTICO, ESTEÁRICO, OLEICO, LINOLEICO E INOLÊNICO) ENCONTRADOS NO CONTROLE E NAS DOSES DE RADIAÇÃO ESTUDADAS (2, 4 E 8 kGy)

3.2 ISOFLAVONAS

A análise dos resultados revelou que as concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra) das isoflavonas apresentaram diferenças significativas entre os cultivares, com exceção da glicitina (3478,13 e 2879,74 $\mu\text{g g}^{-1}$) e daidzeína (52,77 e 52,92 $\mu\text{g g}^{-1}$) (Figura 3). Segundo Hoeck *et al.* (2000) e Vyn *et al.* (2002), a quantidade total de isoflavonas e seu perfil de distribuição variam conforme o cultivar, local de plantio, tipo de solo, clima e ano da safra. Os cultivares avaliados não sofreram influência desses fatores, pois foram obtidos sob as mesmas condições.

Apenas para a isoflavona genisteína, o cultivar BRS 213 apresentou valores superiores ao do cultivar Embrapa 48 (540,72 $\mu\text{g g}^{-1}$).

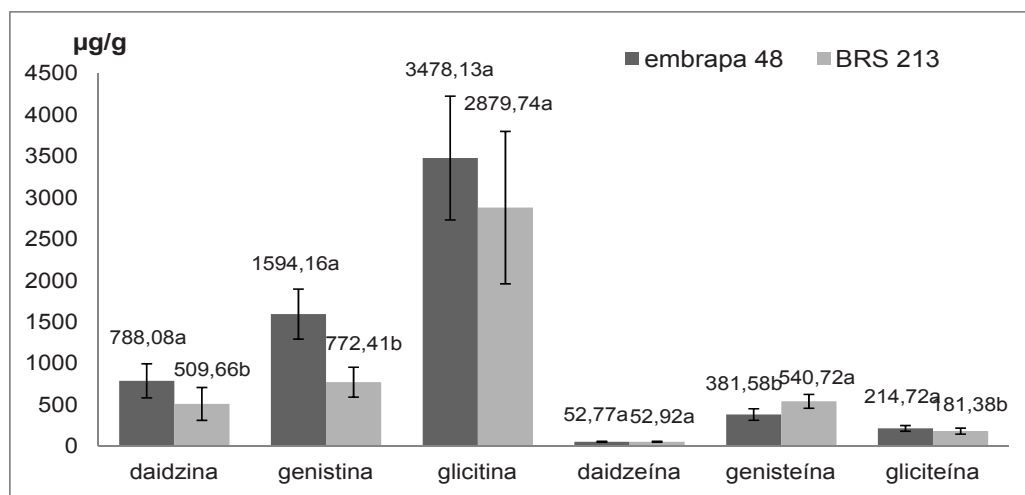


FIGURA 3 - TEORES DE ISOFLAVONAS (DAIDZINA, GLICITINA, GENISTINA, DAIDZEÍNA, GLICITEÍNA E GENISTEÍNA), EM $\mu\text{g g}^{-1}$ DE AMOSTRA, NOS CULTIVARES EMBRAPA 48 E BRS 213

Park *et al.* (2001) verificaram variações dos teores das isoflavonas daidzina (118,4 e 749,4 $\mu\text{g g}^{-1}$), glicitina (16,1 a 130,4 $\mu\text{g g}^{-1}$), genistina (245,0 a 1286,2 $\mu\text{g g}^{-1}$), daidzeína (5,1 a 59,3 $\mu\text{g g}^{-1}$) e genisteína (13,9 a 60,4 $\mu\text{g g}^{-1}$) entre diferentes cultivares de soja procedentes da mesma região brasileira. Comparando os resultados encontrados pelos autores com os do presente trabalho constatou-se que somente as isoflavonas daidzina e daidzeína apresentaram valores semelhantes. Para as demais isoflavonas, os dois cultivares estudados apresentaram teores bem maiores que os descritos por aqueles autores, devido inúmeros fatores que podem alterar a quantidade de isoflavonas nos grãos (HOECK *et al.*, 2000 e VYN *et al.*, 2002).

Góes-Favoni *et al.* (2004) verificaram que os teores de malonil-glicosídeos em dois tipos de farinha cozidas (77,8 e 81,5 $\mu\text{g g}^{-1}$) mostraram-se menores que os encontrados na farinha crua (147,7 $\mu\text{g g}^{-1}$), enquanto o teor de agliconas (daidzeína, gliciteína e genisteína) e de glicosídeos foi maior. As frações malonil-glicosil isoflavonas são termolábeis e se convertem em suas glicosil-isoflavonas quando expostas a altas temperaturas (KUDOU *et al.*, 1991). Como todos os grãos do presente estudo foram cozidos é provável que tenha havido tal transformação.

Aguiar (2004) estudou diferentes cultivares de soja brasileiros e verificou que o extrato metanólico de grão tratado por radiação gama apresentou perda gradual no conteúdo de isoflavonas totais (perda de 33,5 %).

No presente estudo, não foi possível observar diferenças significativas entre os valores de isoflavonas após a utilização das diferentes doses de irradiação (Figura 4). Os resultados corroboram o estudo de Yun *et al.* (2012) em que não foram observadas alterações significativas nos teores de isoflavonas de sojas tratadas com 0, 1, 3, 5 e 10 kGy de radiação gama.

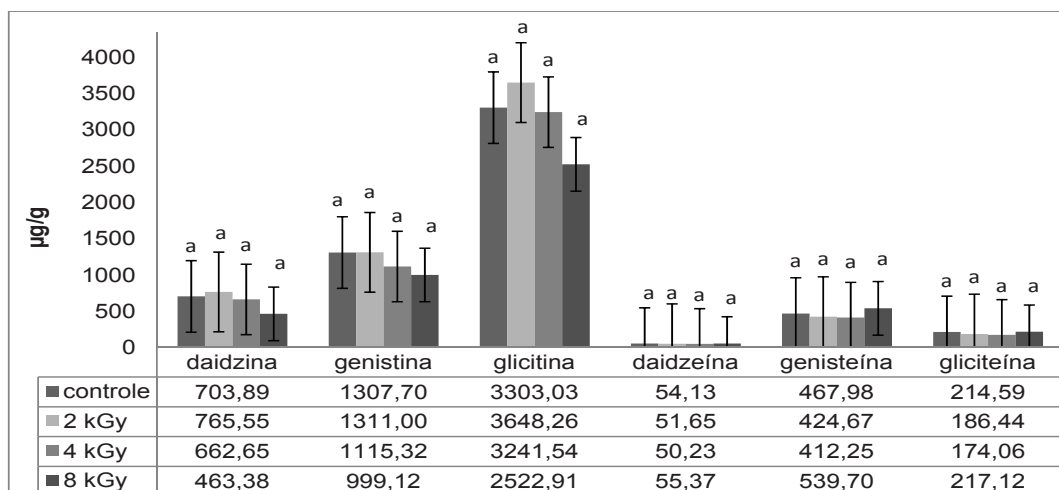


FIGURA 4 - TEORES DE ISOFLAVONAS (DAIDZINA, GLICITINA, GENISTINA, DAIDZEÍNA, GLICITEÍNA E GENISTEÍNA), EM $\mu\text{g g}^{-1}$ DE AMOSTRA, PARA AS DOSES DE RADIAÇÃO 0, 2, 4 e 8 kGy

3.3 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Conforme a Tabela 1, a atividade antioxidante apresentou resultados estatisticamente semelhantes entre os cultivares estudados por ambos os métodos utilizados. Contrariamente aos resultados encontrados, Sapbamrer, Pinta e Tantipaiboonwong (2012) observaram diferenças significativas quanto a atividade antioxidante (% DPPH) de cultivares de soja de diferentes regiões da Tailândia. Os cultivares da região norte apresentaram atividade antioxidante média de 25,72 %, enquanto os da região central do país mostraram 14,07 %, sugerindo que a atividade antioxidante sofre influência de fatores genéticos, localização geográfica e ambiental, tais como temperatura, precipitação, fertilidade do solo e luminosidade. O fato dos cultivares estudados serem provenientes da mesma região geográfica e ambiental pode explicar a semelhança entre os resultados.

TABELA 1 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS DOIS CULTIVARES, OBTIDA POR DPPH (%) E ABTS (%)

	Embrapa 48	BRS 213
DPPH	78,66 \pm 2,8 ^{1a2}	76,77 \pm 2,4 ^a
ABTS	4,47 \pm 2,9 ^a	3,45 \pm 3,3 ^a

¹ Média \pm desvio padrão. ² Médias com letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente em nível de $p \leq 0,05$.

Os resultados da atividade antioxidante, com relação às diferentes doses estudadas, estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PARA AS DOSES DE RADIAÇÃO (0, 2, 4 e 8 kGy), OBTIDA PELOS MÉTODOS DPPH (%) e ABTS (%)

	Doses de radiação (kGy)			
	Controle	2	4	8
DPPH	76,90 \pm 1,7 ^{1bc2}	82,71 \pm 0,3 ^a	79,31 \pm 0,4 ^b	75,73 \pm 1,1 ^c
ABTS	1,67 \pm 0,6 ^a	3,56 \pm 1,2 ^a	6,18 \pm 2,1 ^a	6,48 \pm 3,7 ^a

¹ Média \pm desvio padrão. ² Letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente em nível de $p \leq 0,05$.

A atividade antioxidante obtida por DPPH apresentou diferença significativa entre as amostras irradiadas com 2 e 4 kGy em relação ao controle e a irradiação com 8 kGy. As amostras irradiadas com doses menores mostraram maior capacidade antioxidante pela metodologia DPPH, sugerindo estabilidade da capacidade antioxidante a partir de determinadas doses de irradiação.

Variyar, Limayer e Sharma (2004) observaram aumento na porcentagem da capacidade antioxidante nas doses de 0,5 a 5 kGy, também utilizando a metodologia de DPPH e padrão Trolox. Segundo tais autores, o aumento das isoflavonas livres com a utilização de radiação acima de 1 kGy pode explicar o incremento da capacidade antioxidante das amostras.

As amostras irradiadas com 4 e 8 kGy e analisadas pelo método ABTS apresentaram capacidade antioxidante maior que o controle, podendo ter ocorrido a liberação de compostos antioxidantes.

A diferença entre os resultados encontrados entre os métodos ABTS e DPPH pode ser justificada pelas características e mecanismo de ação dos compostos bioativos, além da metodologia utilizada para avaliar a sua propriedade antioxidante (MELO *et al.*, 2006).

Nas Tabelas 3 e 4 estão apresentadas as atividades antioxidantes das amostras nas diferentes doses de irradiação, medidas por DPPH e ABTS.

TABELA 3 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NOS GRÃOS DO CULTIVAR EMBRAPA 48 SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO (0, 2, 4 E 8 kGy), OBTIDA POR DPPH (%) E ABTS (%)

	Doses de radiação (kGy)			
	Controle	2	4	8
DPPH	76,90±1,7 ^{1bc2}	82,71±0,3 ^a	79,31±0,4 ^b	75,73±1,1 ^c
ABTS	1,67±0,6 ^a	3,56±1,2 ^a	6,18±2,1 ^a	6,48±3,7 ^a

¹ Média ± desvio padrão. ² Letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente em nível de $p \leq 0,05$.

Os resultados experimentais revelaram que o cultivar Embrapa 48 apresentou aumento na atividade antioxidante (DPPH) com a dose de 2 kGy, enquanto as amostras irradiadas com 4 e 8 kGy não diferiram do controle (Tabela 3).

Pelo método ABTS não houve diferença significativa entre o controle e as amostras irradiadas.

TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NOS GRÃOS DO CULTIVAR BRS 213 SUBMETIDOS À IRRADIAÇÃO (0, 2, 4 E 8 kGy), OBTIDA POR DPPH (%) E ABTS (%)

	Doses de radiação (kGy)			
	Controle	2	4	8
DPPH	76,90±1,7 ^{1bc2}	82,71±0,3 ^a	79,31±0,4 ^b	75,73±1,1 ^c
ABTS	1,67±0,6 ^a	3,56±1,2 ^a	6,18±2,1 ^a	6,48±3,7 ^a

¹ Média ± desvio padrão. ² Letra(s) diferente(s) na horizontal diferem significativamente em nível de $p \leq 0,05$.

Conforme a Tabela 4 é possível observar que o controle e as amostras irradiadas com 8 kGy não apresentaram diferenças significativas entre os resultados obtidos por ambos os métodos.

As amostras irradiadas com 2 e 4 kGy apresentaram maior capacidade de oxidação com a utilização do método DPPH, sugerindo estabilidade da capacidade antioxidante a partir de determinadas doses de irradiação. Já com relação ao método ABTS, as amostras irradiadas com

2 kGy apresentaram a menor capacidade antioxidante.

Khattak *et al.* (2008), estudando a semente de *Nigella sativa*, afirmaram que a atividade antioxidante (medida por DPPH) das amostras extraídas, tanto com metanol como com acetona, aumenta com doses crescentes de irradiação (de 2 a 16 kGy), concordando com o resultado encontrado (Tabela 4).

3.4 COMPLEXAÇÃO POLIFENOIS-PROTEÍNAS

As sementes de soja contêm mais proteínas que qualquer outra cultura comercial. Aproximadamente 41 % (em termos de massa seca) da semente de soja consiste em proteínas de armazenamento e 21 % em óleo (YAKLICH, 2001). No entanto, os grãos de leguminosas apresentam fatores antinutricionais que podem provocar efeitos fisiológicos adversos ou diminuir a biodisponibilidade de nutrientes (SILVA e SILVA, 1999).

Taninos são compostos fenólicos considerados antinutrientes devido seu efeito adverso na digestibilidade da proteína (BENEVIDES *et al.*, 2011), já que contém grupos hidroxilas fenólicas suficientes para permitir a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas (DESHPANDE, CHERYAN e SALUNKE, 1986).

Os resultados experimentais mostraram que o cultivar BRS 213 apresentou teor de polifenóis totais superior (2,70 %) ao cultivar Embrapa 48 (2,31 %), diferindo significativamente entre si (Figura 5).

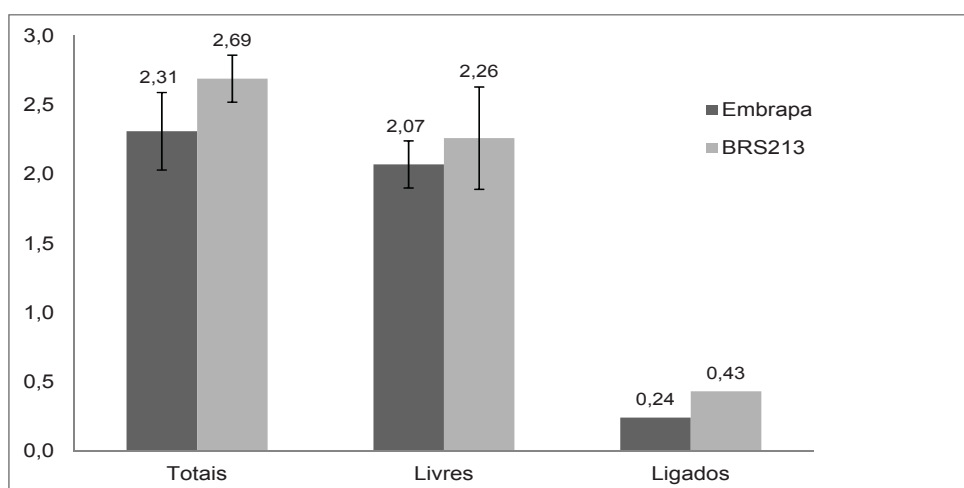


FIGURA 5 - QUANTIDADE DE POLIFENOIS TOTAIS, LIVRES E LIGADOS PARA OS DOIS CULTIVARES ESTUDADOS (EMBRAPA 48 E BRS 213)

O resultado dos polifenóis totais, livres e ligados para as diferentes doses de radiação estudadas (0, 2, 4 e 8 kGy) constam na Figura 6.

O estudo não revelou alterações nos teores de polifenóis totais nas amostras, entretanto, as doses de 2 e 8 kGy proporcionaram aumento significativo nos valores de polifenóis livres em relação ao grupo controle. Esse resultado pode ser explicado pelos grupos sulfidrilas livres das proteínas serem sensíveis à irradiação (GROLICHOVÁ *et al.*, 2004). Tal fato pode causar redução das ligações dissulfeto e/ou oxidação dos grupos sulfidrilas (SOUZA e NETTO, 2006), liberando essas proteínas de sua complexação com os polifenóis. Nesse caso, o aumento de polifenóis livres ocasionado pela irradiação é benéfico, já que disponibiliza a proteína anteriormente ligada. Os resultados de complexação são importantes porque a ligação com as proteínas provoca mudanças, tanto na conformação das proteínas quanto na conformação dos taninos, resultando em insolubilidade do complexo formado (ASQUITH e BUTLER, 1986).

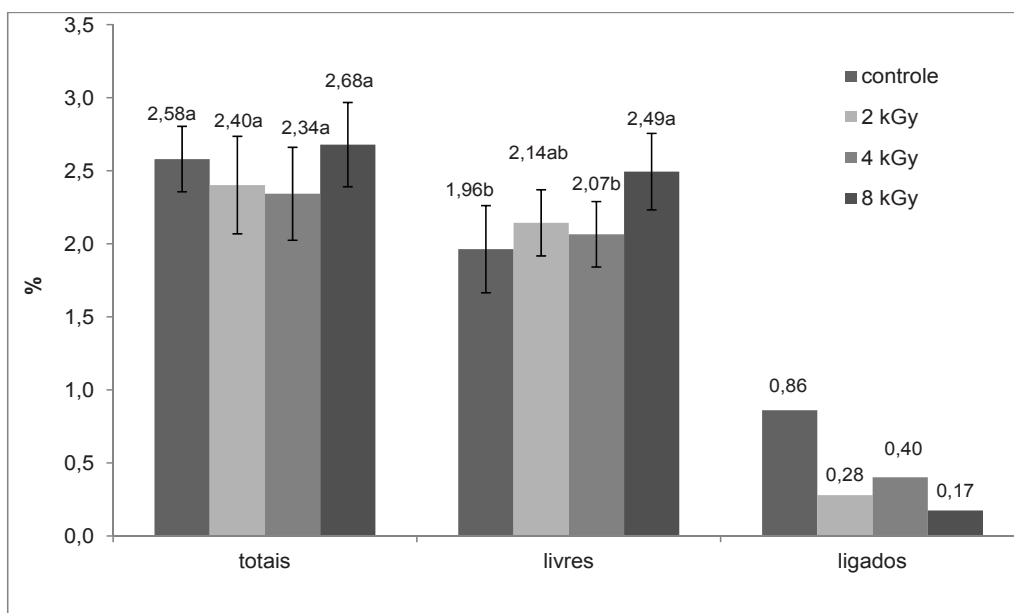


FIGURA 6 - QUANTIDADE DE POLIFENÓIS TOTAIS, LIVRES E LIGADOS PARA AS QUATRO DOSES DE RADIAÇÃO UTILIZADAS (0, 2, 4 e 8 kGy)

4 CONCLUSÃO

A irradiação nas doses utilizadas nos dois cultivares promoveu redução nas quantidades de ácidos linolênico e linoleico, mas o perfil lipídico permaneceu semelhante. Com relação às isoflavonas, o tratamento de radiação provocou aumento nos seus teores na dose de 2 kGy e diminuição com a utilização de 4 e 8 kGy. A irradiação também foi responsável pelo aumento da capacidade antioxidante e redução da complexação entre os polifenóis e as proteínas. A partir desses resultados pode-se concluir que a radiação gama não alterou significativamente as características químicas dos cultivares de soja estudados. No entanto, novas pesquisas justificam-se para avaliar se a irradiação nas doses utilizadas constitui método eficaz para o aumento da vida útil do produto.

ABSTRACT

EFFECTS OF THE GAMMA RADIATION IN NUTRITIONAL QUALITY OF SOYBEAN GRAINS *Glycine max* (L.)

The objective of this study was to determine alterations caused by gamma radiation (doses of 0, 2, 4 and 8 kGy) in two different soybean cultivars (BRS 213 and Embrapa 48). The study included analysis of the lipid profile, isoflavones and total, free and protein-binding polyphenols. Both cultivars showed similar lipid profile and the irradiation decreased the amount of linoleic and linolenic acids. The results showed that glycosylated isoflavones were increased at 2 kGy and decreased at 4 and 8 kGy of radiation. The radiation was also responsible for the increase of antioxidant activity and for protein-binding polyphenols reduction. The results of this study indicated that gamma radiation did not change significantly the chemical characteristics of the soybean cultivars.

KEY-WORDS: SOYBEANS; GAMMA RADIATION; ISOFLAVONES; LIPID PROFILE; ANTIOXIDANT ACTIVITY.

REFERÊNCIAS

- 1 AGUIAR, C.L. **Transformação física e bioquímica de isoflavonas conjugadas de soja (*Glycine max* L.) e o efeito na atividade biológica *in vitro***. 2004. 285 f. Dissertação. (Doutorado em Ciências de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- 2 ABDILLE, M.D.H.; SINGH, R.P.; JAYAPRAKASHA, G.K.; JENA, B.S Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, Barking, v.90, n.4, p.891-896, 2005.

- 3 ARTS, M.J.T.J.; DALLINGA, J.S.; VONS, H.P.; HAENEN, G.R.M.M.; BAST, A. A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. **Food Chemistry**, London, v.88, n.4, p.567-570, 2004.
- 4 Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE). **Importância econômica e social**. Disponível em: < <http://www.abiove.org.br/site/index.php>> Acesso em: 26 de fevereiro de 2013.
- 5 ASQUITH, T.N.; BUTLER, L.G. Interactions of condensed tannins with selected proteins. **Phytochemistry**, Oxford, v.25, n.7, p.1591-1593, 1986.
- 6 BARNES, S.; KIRK, M.; COWARD, L. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.2466-2474, 1994.
- 7 BENEVIDES, C.M.J. *et al.* Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.18, n.2, p.67-79, 2011.
- 8 BERG, V.D. *et al.* Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chemistry**, v.66, n.4, p.511-517, 1999.
- 9 BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.
- 10 BRAND-WILLIAMS, W.; CUVIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.
- 11 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 49, de 22 de dezembro de 2006. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade dos óleos vegetais refinados; a amostragem; os procedimentos complementares; e o roteiro de classificação de óleos vegetais refinados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Seção 1, p.140.
- 12 CAI, T.; CHANG, K.C. Processing effect on soybean storage proteins and their relationship with tofu quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.2, p.720-727, 1999.
- 13 CAMARGO, A.C. *et al.* Efeitos da radiação gama na cor, capacidade antioxidante e perfil de ácidos graxos em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n.1, p.11-15, jan./mar. 2011.
- 14 CAMPOS, A.M.; LISSI, E.A. Kinetics of the reaction between 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) derived radical cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**, v.29, n.3, p.219-224, 1997.
- 15 CARBONARO, M. *et al.* Perspectives into factors limiting *in vivo* digestion of legume proteins: antinutritional compounds or storage proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.742-749, 2000.
- 16 Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). **Estimativa da produção de grãos: safra 2012/2013**. Brasília, DF. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_02_08_17_24_51_boletim_fevereiro_2013.pdf Acesso em: 26 de fevereiro de 2013.
- 17 COWARD, L.; SMITH, M.; KIRK, M.; BARNES, S. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.1486-1491S, 1998.
- 18 DESHPANDE, S.S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.24, n.4, p.401-449, 1986.
- 19 DIEHL, J.F. Food irradiation: past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry**, v.63, n.3-6, p.211-215, 2002.
- 20 DORNBOS, D.L.; MULLEN, R.E. Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustment by drought and temperature. **Journal of American Oil Chemists Society**, v.69, p.228- 231, 1992.
- 21 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA AGROSSILVIPASTORIL). **Perdas de grãos no pós-colheita são discutidas em workshop em Sinop**. Disponível em: <http://cpamt.sede.embrapa.br/imprensa/noticias/perdas-de-graos-no-pos-colheita-sao-discutidos-em-workshop-em-sinop/?searchterm=perdas%20de%20soja> Acesso em: 26 de fevereiro de 2013.
- 22 ESAKI, H.; WATANABE, R.; ONOZAKI, H.; KAWAKISHI, S.; OSAWA, T. Formation mechanism for potent antioxidant O-dihydroxy-isoflavones in soybean fermented with *Aspergillus saitoi*. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, v.63, n.5, p.851-858, 1999.
- 23 FUKUTAKE, M.; TAKAHASHI, M.; ISHIDA, K.; KAWAMURA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. **Food and Chemical Toxicology**, v.34, n.5, p.457-461, 1996.
- 24 GÓES-FAVONI, S.P. *et al.* Isoflavonas em produtos comerciais de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p.582-586, 2004.
- 25 GROLICHOVÁ, M. *et al.* Employing ionizing radiation to enhance food safety - a review. **Acta Veterinaria Brunensis**,

- v.73, n.1, p.143-149, 2004.
- 26 HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, p.475-494, 1973.
 - 27 HOECK, J.A. *et al.* Influence of genotype and environment contents of soybean. **Crop Science**, v.40, p.48-51, 2000.
 - 28 HOU, H.J.; CHANG, K.C. Yield and textural properties of tofu as affected by the changes of phytate content during soybean storage. **Journal of Food Science**, v.68, n.4, p.1185-1191, 2003.
 - 29 HOU, D.H.J.; CHANG, K.C. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 12, p. 3792-3800, 2004.
 - 30 HUANG, D.J.; OU, B.X.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.6, p.1841-1856, 2005.
 - 31 KHATTAK *et al.* Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed. **Food Chemistry**, v.100, n.4, p.967-972, 2008.
 - 32 KAUR, M.; SINGH, N. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v.102, n.1, p.366-374, 2007.
 - 33 KUDOU, S.; FLEURY, Y.; WELTI, D.; MAGNOLATO, D.; UCHIDA, T.; KITAMURA, K.; OKOTUBO, K. Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds (*Glycine max* Merrill). **Agriculture Biologic Chemistry**, v.55, n.9, p.2227-2233, 1991.
 - 34 MELO, E. de A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; LEAL, F.L.L.; CAETANO, A.C. da S.; NASCIMENTO, R.J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.639-644, 2006.
 - 35 NOVELLI, V.M.; FREITAS-ASTÚA, J.; SEGATTI, N.; MINEIRO, J.L.C.; ARTHUR, V.; BASTIANEL, M.; HILF, M.E.; GOTTWALD, T.R.; MACHADO, M.A. Effects of radiation (Cobalt-60) on the elimination of *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) *Cardinium endosymbiont*. **Experimental and Applied Acarology**, v.45, p.147-153, 2008.
 - 36 PARK, Y.K.; AGUIAR, C.L.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P. Avaliação do teor de isoflavonas em soja brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.3, n.3, p.156-160, 2001.
 - 37 PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 10. ed. São Paulo: Editora Nobel, 1982. 430 p.
 - 38 PRIOR, R.L.; WU, X.L.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.10, p.4290-4302, 2005.
 - 39 RATNAYAKE, W.M.N.; HOLLYWOOD, R.; O'GRADY, E.; BEARE-ROGERS, J.L. Determination of *cis* and *trans*-octadecenoic acids in margarines by gas chromatography-infrared spectrophotometry. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v.67, n.11, p.804-810, 1990.
 - 40 RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n.9-10, p.1231-1237, 1999.
 - 41 SAPBAMRER, R.; PINTA, K.; TANTIPAIBOONWONG, P. Isoflavones and anti-oxidant activities of soybean in Thailand. **Research Journal of Phitochemistry**, v.6. n.4, p.113-119, 2012.
 - 42 SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos. **Revista de Nutrição**, v.12, n.1, p.5-19, 1999.
 - 43 SINGH, R.P.; MURTH, K.N.C.; JAYAPRAKASHA, G.K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using *in vitro* models. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.1, p.81-86, 2002.
 - 44 SOUZA, A.S.; NETTO, F.M. Influência da irradiação e do armazenamento nas características estruturais da proteína de soja. **Brazilian Journal Food Technology**, v.9, p.36-43, 2006.
 - 45 Statistical Analysis System Institute (SAS). **Sas/Qc software: usage and reference** (version 6). 2nd ed. Cary, 1996. 1 CD-ROM.
 - 46 TANGO, J.S.; TURATTI, J.M.; SILVA, M.T.C.; SHIROSE, I.; YOTSUYANAGI, K. Influência do local de plantio no teor e características do óleo de algumas cultivares de soja. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.4, p.355-374, 1983.
 - 47 TEIXEIRA, J.P.F.; RAMOS, M.T.B.; MORAES, R.M.; FARACO, M.H.; MASCARENHAS, H.A.A. Acúmulo de substâncias de reserva em grãos de soja: matéria seca, óleo e ácidos graxos. **Bragantia**, v.44, n.1, p.295-309, 1985.
 - 48 VARIYAR, P.S.; LIMAYER, A.; SHARMA, A. Radiation-induced enhanced of antioxidant contents of soybean (*Glycine max* Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.11, p.3385-3388, 2004.

- 49 VIEIRA, C.R.; CABRAL, L.C.; PAULA, A.C.R. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.7, p.1277-1283, jul. 1999.
- 50 VYN, T.J.; YIN, X; BRUULSEMA, T.W.; JACKSON, C.J.; RAJCAN, I.; BROUDER S.M. Potassium fertilization effects on isoflavone concentration in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.12, p.3501-3506, 2002.
- 51 YAKLICH, R.W. β -conglycinin and glycinin in high-protein soybean seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.729-735, 2001.
- 52 YUN, J.; LI, X.; FAN, X; TANG, Y; XIAO, Y; WAN, S. Effect of gamma irradiation on microbial load, physicochemical and sensory characteristics of soybeans (*Glycine max* L. Merrill). **Radiation Physics and Chemistry**, v.81, n.8, p.1198-1202, 2012.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo auxílio financeiro e à EMBRAPA pela doação dos grãos.